【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成18年3月2日(2006.3.2)

【公表番号】特表2005-512569(P2005-512569A)
【公表日】平成17年5月12日(2005.5.12)
【年通号数】公開・登録公報2005-018
【出願番号】特願2003-554898(P2003-554898)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　48/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　31/12　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　31/20　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/00　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/01　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/15　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/19　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/68　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/00　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/00　ＺＮＡＡ
Ａ６１Ｋ　48/00
Ａ６１Ｐ　31/12
Ａ６１Ｐ　31/20
Ａ６１Ｐ　35/00
Ａ６１Ｐ　37/00
Ｃ０７Ｋ　14/01
Ｃ１２Ｎ　1/15
Ｃ１２Ｎ　1/19
Ｃ１２Ｎ　1/21
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ｃ１２Ｑ　1/68　Ａ
Ｃ１２Ｎ　5/00　Ａ
Ａ６１Ｋ　37/02

【手続補正書】
【提出日】平成17年12月26日(2005.12.26)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
少なくとも１つの真核細胞ウイルスに由来する多数の発現可能な構造遺伝子を含む核酸ライブラリーの調製方法であって、

ａ）それぞれが真核細胞ウイルス由来の構造遺伝子を少なくとも１つコードし、かつ適切なパッケージング配列を含む、一組の核酸を用意し、
ｂ）挿入配列（２）を該構造遺伝子に挿入し、その際、挿入配列（２）は機能性構造タンパク質の形成を阻害するものであり、そして
ｃ）挿入配列（１）を構造遺伝子に挿入して構造遺伝子のある配列を除去し、その際、除去された配列が挿入配列（２）を含むか、またはその一部である
工程を含む方法。
【請求項２】
構造遺伝子が、無エンベロープウイルス、たとえばパルボウイルスまたはアデノウイルスに由来するｃａｐ遺伝子である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
挿入配列（２）が、終止コドンを含有することにより機能性キャプシドタンパク質の形成を阻害する、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
挿入配列（１）が、構造タンパク質の表面にあるアミノ酸をコードするｃａｐ遺伝子領域に挿入される、請求項１～３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
パルボウイルス、より好ましくはアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、イヌパルボウイルス（ＣＰＶ）、ＭＶＭ、Ｂ１９、Ｈ１、ＡＡＡＶまたはＧＰＶに由来する多数の発現可能な構造遺伝子、好ましくはｃａｐ遺伝子を含み、その際、10^5 より多い、特に10^6 より多い多数である、核酸ライブラリー。
【請求項６】
挿入核酸配列により、ＶＰ１、ＶＰ２および／またはＶＰ３構造タンパク質の、好ましくはキャプシド表面に位置する部位に、アミノ酸が挿入される、請求項５に記載のライブラリー。
【請求項７】
挿入核酸配列が、ＶＰ１の第１アミノ末端アミノ酸１～５０内のいずれかの部位に対応する核酸、あるいはＶＰ１のアミノ酸位置２６１、３８１、４４７、５３４、５７３および／または５８７、好ましくはアミノ酸位置４４７または５８７に対応する核酸の後に挿入された、請求項５または６に記載のライブラリー。
【請求項８】
請求項１～４のいずれか１項に記載の方法により得られる、少なくとも１つの真核細胞ウイルスに由来する10^5 より多い多数の発現可能な構造遺伝子を含む、核酸ライブラリー。
【請求項９】
請求項１～８のいずれか１項に定めるライブラリーの核酸を発現させることにより得られる、キャプシドタンパク質修飾体を含む、ビリオン、特にパルボウイルスビリオンのライブラリー。
【請求項１０】
ｃａｐ遺伝子が、ＲＧＤまたはＤＤＤモチーフ、好ましくはＲＧＤＸＰまたはＤＤＤＸＰモチーフ、特にヒトタンパク質中に存在しないＲＧＤモチーフを含むアミノ酸、ただし挿入配列ＡＧＴＦＡＬＲＧＤＮＰＱＧ以外のものを生じる挿入配列を有する、ｃａｐ遺伝子コード核酸。
【請求項１１】
ｃａｐ遺伝子が、アミノ酸ＲＧＤＸＸＸＸ、ＲＧＤＸＰＸＸ、ＤＤＤＸＰＸＸ、ＲＧＤＡＶＧＶ、ＲＧＤＴＰＴＳ、ＲＳＮＡＶＶＰ、ＲＤＮＡＶＶＰ、ＧＫＬＦＶＤＲ、ＧＥＮＱＡＲＳ、ＲＳＮＧＶＶＰまたはＮＳＶＲＡＰＰを生じる挿入配列を有する、ｃａｐ遺伝子コード核酸。
【請求項１２】
挿入核酸配列が、ＶＰ１の第１アミノ末端アミノ酸１～５０に対応するいずれかの部位

、ＶＰ１のアミノ酸位置２６１、３８１、４４７、５３４、５７３および／または５８７に対応する部位の後、好ましくはアミノ酸位置４４７または５８７に対応する部位の後に挿入された、請求項１０または１１に記載の核酸。
【請求項１３】
少なくとも１つの真核細胞ウイルス、好ましくはパルボウイルスに由来する多数の発現可能なｃａｐ遺伝子を含む核酸ライブラリーの調製における、請求項１０～１２のいずれか１項に記載のｃａｐ遺伝子コード核酸の使用。
【請求項１４】
請求項１０～１２のいずれか１項に記載の核酸を含む、細菌または細胞。
【請求項１５】
特定の細胞タイプに対する感染性または特異性の増大した組換えビリオンを選択する方法であって、
ｉ）少なくとも１つの第１細胞に、請求項５～９のいずれか１項に記載のライブラリーからの少なくとも１つの核酸、ならびにＩＴＲ、およびビリオンのパッケージングに必要なＲｅｐタンパク質の機能を付与する遺伝子を含む、ベクター構築体を付与し；
ｉｉ）第１細胞に、ビリオンのパッケージングに必要な細胞性、ウイルス性、物理的および／または化学的ヘルパー機能を付与し；
ｉｉｉ）第１細胞をビリオンのパッケージングに適した条件下でインキュベートし、第１細胞が産生したビリオンを採集し；
ｉｖ）少なくとも１つの第２細胞にこれらのビリオンを感染させ；
ｖ）第２細胞に、ビリオンのパッケージングに必要な細胞性、ウイルス性、物理的および／または化学的ヘルパー機能を付与し；
ｖｉ）第２細胞をビリオンのパッケージングに適した条件下でインキュベートし、第２細胞が産生したビリオンを採集する
工程を含み、工程ｉｖ）～ｖｉ）を数回反復することができる方法。
【請求項１６】
修飾された免疫原性を有する組換えビリオンを選択する方法であって、
ｉ）少なくとも１つの第１細胞に、本発明のライブラリーからの少なくとも１つの核酸およびビリオンのパッケージングに必要な第２核酸を含む、ベクター構築体を付与し；
ｉｉ）必要ならば、第１細胞に、ビリオンのパッケージングに必要な細胞性、ウイルス性、物理的および／または化学的ヘルパー機能を付与し；
ｉｉｉ）第１細胞をビリオンのパッケージングに適した条件下でインキュベートし、第１細胞が産生したビリオンを採集し；
ｉｖ）産生されたビリオンに免疫選択工程を施し；
ｖ）少なくとも１つの第１または第２細胞に採集したビリオンを感染させ；
ｖｉ）第１または第２細胞に、ビリオンのパッケージングに必要な細胞性、ウイルス性、物理的および／または化学的ヘルパー機能を付与し；
ｖｉｉ）第１または第２細胞をビリオンのパッケージングに適した条件下でインキュベートし、第１または第２細胞が産生したビリオンを採集する
工程を含み、工程ｉｖ）～ｖｉｉ）を数回反復することができる方法。
【請求項１７】
請求項１５または１６に記載の工程、ならびにさらに
ｉｘ）ビリオンのｃａｐ遺伝子（１以上）の核酸をクローニングする
工程を含む、変異ｃａｐ遺伝子の同定方法。
【請求項１８】
請求項１５～１７のいずれか１項に記載の工程を含み、第２細胞が各受容体を発現する、受容体結合モチーフの選択方法。
【請求項１９】
特定の細胞タイプに感染しうる組換えビリオンをインビボ選択する方法であって、
ｉ）少なくとも１つの第１細胞に、請求項６～９のいずれか１項に記載のライブラリー

からの少なくとも１つの核酸、ならびにＩＴＲ、およびビリオンのパッケージングに必要なＲｅｐタンパク質の機能を付与する遺伝子を含む、ベクター構築体を付与し；
ｉｉ）第１細胞に、ビリオンのパッケージングに必要な細胞性またはウイルス性ヘルパー機能を付与し；
ｉｉｉ）第１細胞をビリオンのパッケージングに適した条件下でインキュベートし、第１細胞が産生したビリオンを採集し；
ｉｖ）動物にこれらのビリオンを感染させる
工程を含む方法。
【請求項２０】
特定の細胞タイプに対する感染性または特異性の増大したビリオンを生じる変異ｃａｐ遺伝子を同定するための方法であって、請求項１９に記載の工程、およびさらに
ｖ）そのような動物細胞タイプからｃａｐ遺伝子（１以上）の核酸をクローニングする工程を含む方法。
【請求項２１】
配列ＲＧＤＡＶＧＶ、ＲＧＤＴＰＴＳ、ＧＫＬＦＶＤＲ、ＲＤＮＡＶＶＰ、ＧＥＮＱＡＲＳ、ＲＳＮＧＶＶＰ、ＲＳＮＡＶＶＰまたはＮＳＶＲＡＰＰを有するペプチドを含むポリペプチド。
【請求項２２】
請求項１５、１６、１８または１９のいずれか１項に記載の方法により得られる組換えビリオン。
【請求項２３】
請求項１７、１８または２０のいずれか１項に記載の方法により得られる変異ｃａｐ遺伝子がコードするＣａｐタンパク質。
【請求項２４】
請求項２２に記載のビリオンまたは請求項２３に記載のＣａｐタンパク質を含む、癌、自己免疫疾患、感染症または遺伝子欠損を伴う患者を処置するための医薬。